

TRAITÉ COOPERATION EN MATÉRIE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION D'ELECTION
(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

en sa qualité d'office élu

Date d'expédition (jour/mois/année) 24 octobre 2000 (24.10.00)	
Demande internationale no PCT/FR00/00725	Référence du dossier du déposant ou du mandataire BET 00/0254
Date du dépôt international (jour/mois/année) 22 mars 2000 (22.03.00)	Date de priorité (jour/mois/année) 23 mars 1999 (23.03.99)
Déposant EMMERICH, Joseph etc	

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:

dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

07 septembre 2000 (07.09.00)

dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection a été faite

n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse no de télécopieur: (41-22) 740.14.35	Fonctionnaire autorisé Antonia Muller no de téléphone: (41-22) 338.83.38
--	--

THIS PAGE BLANK (USPTO)

TRAITEMENT COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS
PCT

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire BET 00/0254	POUR SUITE voir la notification de transmission du rapport de recherche international (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après A DONNER	
Demande internationale n° PCT/FR 00/ 00725	Date du dépôt international(jour/mois/année) 22/03/2000	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 23/03/1999
Déposant		
INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE M		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 3 feilles.

Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. Base du rapport

- a. En ce qui concerne la langue, la recherche internationale a été effectuée sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous le même point.
 - la recherche internationale a été effectuée sur la base d'une traduction de la demande internationale remise à l'administration.
- b. En ce qui concerne les séquences de nucléotides ou d'acides aminés divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage des séquences :
 - contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
 - déposée avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
 - remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
 - remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
 - La déclaration, selon laquelle le listage des séquences présenté par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
 - La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous forme déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences présenté par écrit, a été fournie.

2. Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).

3. Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

4. En ce qui concerne le titre,

- le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.
- Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

METHODE DE DETERMINATION D'UNE PREDISPOSITION A UNE MALADIE THROMBOEMBOLIQUE VEINEUSE

5. En ce qui concerne l'abrégué,

- le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant
- le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure des dessins à publier avec l'abrégué est la Figure n°

- suggérée par le déposant.
- parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.
- parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

Aucune des figures n'est à publier.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Final Application No

PCT/FR 00/00725

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)			Publication date
US 5424187	A 13-06-1995	AU 2249892	A 12-01-1993	WO 9222819	A 23-12-1992
		US 5830874	A 03-11-1998	ZA 9206713	A 09-03-1993

WO 9817280	A 30-04-1998	AU 4712697	A 15-05-1998	EP 0952835	A 03-11-1999

WO 9806408	A 19-02-1998	AU 3984397	A 06-03-1998	EP 0964686	A 22-12-1999
		HU 9903964	A 28-03-2000		

WO 9000061	A 11-01-1990	FI 883067	A 28-12-1989	AT 98492	T 15-01-1994
		AU 3861989	A 23-01-1990	DE 68911500	D 27-01-1994
		DE 68911500	T 09-06-1994	EP 0377722	A 18-07-1990
		JP 3500210	T 17-01-1991		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

International No

PCT/FR 00/00725

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 GO1N33/569

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 GO1N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

BIOSIS, MEDLINE, EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>DATABASE BIOSIS 'en ligne!' BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; FRYER, RICHARD H. ET AL: "Chlamydia species infect human vascular endothelial cells and induced procoagulant activity." retrieved from STN XP002124198 abrégé & JOURNAL OF INVESTIGATIVE MEDICINE, (1997) VOL. 45, NO. 4, PP. 168-174.,</p> <p>----</p> <p>-/-</p>	1

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

23 juin 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

10/07/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Muñoz, M

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Do. Internationale No
PCT/FR 00/00725

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>DATABASE MEDLINE 'en ligne! US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; VISSEREN F L ET AL: "Atherosclerosis as an infectious disease!. Atherosclerose als infectieziekte." retrieved from STN Database accession no. 1999237434 XP002124199 abrégé & NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR GENEESKUNDE, (1999 FEB 6) 143 (6) 291-5. REF: 36,</p> <p>---</p>	1,3
A	<p>DATABASE BIOSIS 'en ligne! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; MATTILA, K. J. (1) ET AL: "Role of infection as a risk factor for atherosclerosis, myocardial infarction, and stroke." retrieved from STN XP002124200 abrégé & CLINICAL INFECTIOUS DISEASES, (MARCH, 1998) VOL. 26, NO. 3, PP. 719-734.,</p> <p>---</p>	1
A	<p>US 5 424 187 A (SHOR ALLAN ET AL) 13 juin 1995 (1995-06-13) le document en entier</p> <p>---</p>	1
A	<p>WO 98 17280 A (ST GEORGE S ENTERPRISES LTD ;GUPTA SANDEEP (GB)) 30 avril 1998 (1998-04-30) cité dans la demande abrégé</p> <p>---</p>	1-6
A	<p>WO 98 06408 A (WISTAR INST) 19 février 1998 (1998-02-19) cité dans la demande abrégé</p> <p>---</p>	1-6
A	<p>WO 90 00061 A (LABSYSTEMS OY) 11 janvier 1990 (1990-01-11) cité dans la demande abrégé</p> <p>---</p>	1-6

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Recherche internationale No

PCT/FR 00/00725

Document brevet cité au rapport de recherche	Date d' publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)			Date de publication
US 5424187 A	13-06-1995	AU	2249892 A		12-01-1993
		WO	9222819 A		23-12-1992
		US	5830874 A		03-11-1998
		ZA	9206713 A		09-03-1993
WO 9817280 A	30-04-1998	AU	4712697 A		15-05-1998
		EP	0952835 A		03-11-1999
WO 9806408 A	19-02-1998	AU	3984397 A		06-03-1998
		EP	0964686 A		22-12-1999
		HU	9903964 A		28-03-2000
WO 9000061 A	11-01-1990	FI	883067 A		28-12-1989
		AT	98492 T		15-01-1994
		AU	3861989 A		23-01-1990
		DE	68911500 D		27-01-1994
		DE	68911500 T		09-06-1994
		EP	0377722 A		18-07-1990
		JP	3500210 T		17-01-1991

THIS PAGE BLANK (USPTO)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No
PCT/FR 00/00725

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 GO1N33/569

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE
CIB 7 GO1N

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)
BIOSIS, MEDLINE, EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS	no. des revendications visées
Catégorie * Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	1

X DATABASE BIOSIS 'en ligne!
BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE,
PHILADELPHIA, PA, US;
FRYER, RICHARD H. ET AL: "Chlamydia
species infect human vascular endothelial
cells and induced procoagulant activity."
retrieved from STN
XP002124198
abrégé
& JOURNAL OF INVESTIGATIVE MEDICINE,
(1997) VOL. 45, NO. 4, PP. 168-174.,

-/-

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgarion orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

23 juin 2000

10/07/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl.
Tel (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Muñoz, M

THIS PAGE BLANK (USPTO)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 00/00725

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>DATABASE MEDLINE 'en ligne! US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; VISSEREN F L ET AL: "Atherosclerosis as an infectious disease!. Atherosclerose als infectieziekte." retrieved from STN Database accession no. 1999237434 XP002124199 abrégé & NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR GENEESKUNDE, (1999 FEB 6) 143 (6) 291-5. REF: 36,</p> <p>---</p>	1,3
A	<p>DATABASE BIOSIS 'en ligne! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; MATTILA, K. J. (1) ET AL: "Role of infection as a risk factor for atherosclerosis, myocardial infarction, and stroke." retrieved from STN XP002124200 abrégé & CLINICAL INFECTIOUS DISEASES, (MARCH, 1998) VOL. 26, NO. 3, PP. 719-734.,</p> <p>---</p>	1
A	<p>US 5 424 187 A (SHOR ALLAN ET AL) 13 juin 1995 (1995-06-13) le document en entier</p> <p>---</p>	1
A	<p>WO 98 17280 A (ST GEORGE S ENTERPRISES LTD ;GUPTA SANDEEP (GB)) 30 avril 1998 (1998-04-30) cité dans la demande abrégé</p> <p>---</p>	1-6
A	<p>WO 98 06408 A (WISTAR INST) 19 février 1998 (1998-02-19) cité dans la demande abrégé</p> <p>---</p>	1-6
A	<p>WO 90 00061 A (LABSYSTEMS OY) 11 janvier 1990 (1990-01-11) cité dans la demande abrégé</p> <p>-----</p>	1-6

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/00725

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)			Publication date
US 5424187	A 13-06-1995	AU WO US ZA	2249892 A 9222819 A 5830874 A 9206713 A		12-01-1993 23-12-1992 03-11-1998 09-03-1993
WO 9817280	A 30-04-1998	AU EP	4712697 A 0952835 A		15-05-1998 03-11-1999
WO 9806408	A 19-02-1998	AU EP HU	3984397 A 0964686 A 9903964 A		06-03-1998 22-12-1999 28-03-2000
WO 9000061	A 11-01-1990	FI AT AU DE DE EP JP	883067 A 98492 T 3861989 A 68911500 D 68911500 T 0377722 A 3500210 T		28-12-1989 15-01-1994 23-01-1990 27-01-1994 09-06-1994 18-07-1990 17-01-1991

THIS PAGE BLANK (USPTO)

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

REC'D U 2 JUL 2001

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL PCT

(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire BET 00/0254	POUR SUITE A DONNER		voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)
Demande internationale n° PCT/FR00/00725	Date du dépôt international (jour/mois/année) 22/03/2000	Date de priorité (jour/mois/année) 23/03/1999	
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB G01N33/569			
Déposant INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM)			

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 6 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
- Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I Base du rapport
- II Priorité
- III Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV Absence d'unité de l'invention
- V Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI Certains documents cités
- VII Irrégularités dans la demande internationale
- VIII Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 07/09/2000	Date d'achèvement du présent rapport 28.06.2001
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Jacques, P N° de téléphone +49 89 2399 8934



THIS PAGE BLANK (USPTO)

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/00725

I. Base du rapport

1. En ce qui concerne les **éléments** de la demande internationale (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17)*):

Description, pages:

1-14 version initiale

Revendications, N°:

1-6 version initiale

2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: , qui est :

- la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
 - la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
 - la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).
3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :
- contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
 - déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
 - remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
 - remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
 - La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
 - La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listages des séquences Présenté par écrit, a été fournie.
4. Les modifications ont entraîné l'annulation :
- de la description, pages :
 - des revendications, n°s :
 - des dessins, feuilles :

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/00725

5. Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 1-6
	Non : Revendications
Activité inventive	Oui : Revendications 1-6
	Non : Revendications
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-6
	Non : Revendications

2. Citations et explications
voir feuille séparée

VII. Irrégularités dans la demande internationale

Les irrégularités suivantes, concernant la forme ou le contenu de la demande internationale, ont été constatées :
voir feuille séparée

VIII. Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :
voir feuille séparée

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Concernant le point V

Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventiv et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Il est fait référence aux documents suivants:

D1: DATABASE BIOSIS [en ligne] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; FRYER, RICHARD H. ET AL: 'Chlamydia species infect human vascular endothelial cells and induced procoagulant activity.' retrieved from STN & JOURNAL OF INVESTIGATIVE MEDICINE, (1997) VOL. 45, NO. 4, PP. 168-174.

2. Le document "DATABASE MEDLINE [en ligne] US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; VISSEREN F L ET AL: '[Atherosclerosis as an infectious disease]. Atherosclerose als infectieziekte" n'est pas considéré comme pertinent car ledit document révèle le lien entre une infection par *Chlamydia pneumonia* et les maladies de système artériel. Ledit document ne révèle pas un lien entre ladite infection et les pathologies du système veineux.
3. Mis à part l' objection soulevée au sens de l'Article 6 PCT pour manque de clarté (voir le point 1 dans la section VIII ci-dessous), la combinaison particulière des caractéristiques de la revendication 1 n'étant pas révélée dans l'art antérieur, l'objet de ladite revendication est considéré comme nouveau au sens de l'Article 33(2) PCT.
4. L'objet de ladite revendication 1 implique également une activité inventive au sens de l'article 33(3) PCT pour la raison suivante:
L'état de la technique le plus proche est le document D1.
Ledit document D1 concerne l'étude des mécanismes biochimiques impliqués dans le développement de l'athérosclérose suite à une infection par *Chlamydia pneumonia* (introduction). Pour ce faire, les auteurs ont utilisé un modèle d'étude *in vitro* reposant sur des cellules veineuses de cordon ombilical humain. Lesdites cellules ont été infectées par *Chlamydia pneumonia* et l'expression du facteur tissulaire TF a été mesuré. Ledit facteur tissulaire TF étant connu pour provoquer la formation de

THIS PAGE BLANK (USPTO)

thrombine, l'activation de plaquettes et la formation de fibrine. TF est considéré comme le principal initiateur de la coagulation sanguine (page 173, colonne de gauche, dernier paragraphe). Les auteurs ont ainsi montré qu'une infection par *Chlamydia pneumonia* provoque une augmentation de 4 fois dudit facteur tissulaire TF (introduction).

L'objet de la revendication 1 diffère de D1 dans le fait que l'on détermine, *in vitro*, si un sujet a été infecté par une bactérie du genre *Chlamydia*, notamment *Chlamydia pneumonia*.

L'effet technique de cette différence résulte dans la détermination *in vitro* d'une prédisposition à une maladie thromboembolique veineuse.

Le problème technique à résoudre apparaît donc comme la mise au point d'une méthode de détermination *in vitro* d'une prédisposition à une maladie thromboembolique chez un sujet.

D1 confirme le lien entre une infection par *Chlamydia pneumonia* et le développement de l'athérosclérose. D1 démontre qu'une augmentation de l'expression du facteur tissulaire TF, principal initiateur de la coagulation sanguine, est à l'origine dudit développement.

Il apparaît que les mécanismes impliqués dans la thrombose veineuse soient différents. Ladite thrombose veineuse peut être due à une prédisposition génétique, à un déficit en antithrombine, en protéine C ou S ainsi qu'à divers facteurs de risques conventionnels (description page 1, lignes 17-20).

Aucune évidence de l'infection d'un endothélium veineux par *Chlamydia pneumonia* n'a été mis en évidence (page 2, lignes 3-10).

Les auteurs ont pour la première fois mis en évidence un lien étroit entre une infection par une bactérie du genre Chlamydia et une maladie thromboembolique veineuse.

Aucune infection de l'endothélium veineux par *Chlamydia pneumonia* n'ayant été mis en évidence, l'homme du métier n'aurait pas été motivé de rechercher un lien entre une telle infection et une maladie thromboembolique veineuse.

Un tel lien n'étant ni révélé, ni suggéré dans les documents de l'art antérieur, l'objet de la revendication 1 implique une activité inventive au sens de l'Article 33(3) PCT.

Le même raisonnement s'applique à la revendication dépendante 2.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

De la même manière, l'objet de la revendication 3, qui concerne une seconde utilisation médicale d'un agent actif contre une telle infection pour la prévention et/ou le traitement d'une maladie thromboembolique veineuse, implique une activité inventive.

Il en va de même des revendications dépendantes 4 à 6.

Concernant le point VII**Irrégularités dans la demande internationale**

1. Contrairement à ce qu'exige la règle 5.1 a) ii) PCT, la description n'indique pas l'état de la technique antérieure pertinent exposé dans le document D1 et ne cite pas ce document.

Concernant le point VIII**Observations relatives à la demande internationale**

1. L'objet de la revendication 1 ne remplit pas les exigences de l'Article 6 PCT pour les raisons suivantes:
 - l'emploi de l'article indéfini "une" dans l'expression "une maladie thromboembolique" laisse penser qu'il s'agit de différentes maladies alors que l'emploi de l'article défini "la" dans l'expression "la maladie thromboembolique" dans la description (page 1, ligne 11) laisse penser le contraire. Ladite contradiction entraîne ainsi un manque de clarté de la revendication 1.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Translation
09/93/035

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

RECEIVED #7
MAR - 7 2002
TECH CENTER 1600/2900

Applicant's or agent's file reference BET 00/0254	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR00/00725	International filing date (day/month/year) 22 March 2000 (22.03.00)	Priority date (day/month/year) 23 March 1999 (23.03.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC G01N 33/569		
Applicant INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM)		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I Basis of the report
- II Priority
- III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV Lack of unity of invention
- V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI Certain documents cited
- VII Certain defects in the international application
- VIII Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 07 September 2000 (07.09.00)	Date of completion of this report 28 June 2001 (28.06.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

the international application as originally filed.

the description, pages 1-14, as originally filed,

pages _____, filed with the demand,

pages _____, filed with the letter of _____,

pages _____, filed with the letter of _____,

the claims, Nos. 1-6, as originally filed,

Nos. _____, as amended under Article 19,

Nos. _____, filed with the demand,

Nos. _____, filed with the letter of _____,

Nos. _____, filed with the letter of _____,

the drawings, sheets/fig _____, as originally filed,

sheets/fig _____, filed with the demand,

sheets/fig _____, filed with the letter of _____,

sheets/fig _____, filed with the letter of _____,

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

the description, pages _____

the claims, Nos. _____

the drawings, sheets/fig _____

3. This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/FR 00/00725**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-6	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-6	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-6	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations**1. Reference is made to the following document:**

D1: DATABASE BIOSIS [online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; FRYER, RICHARD H. ET AL: "Chlamydia species infect human vascular endothelial cells and induced procoagulant activity", retrieved from STN & JOURNAL OF INVESTIGATIVE MEDICINE, (1997), Vol. 45, No. 4, pp. 168-174.

2. The document "DATABASE MEDLINE [online] US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; VISSEREN F L ET AL: "[Atherosclerosis as an infectious disease]. Atherosclerose als infectieziekte" is not considered to be relevant since said document discloses the connection between an infection with *Chlamydia pneumonia* and diseases of the arterial system. Said document does not disclose a connection between said infection and diseases of the venous system.
3. Aside from the objection raised under the terms of PCT Article 6 for a lack of clarity (see point 1 in

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Box VIII hereinafter), the specific combination of features of Claim 1 is not disclosed in the prior art and, as a result, the subject matter of said claim is considered to be novel under the terms of PCT Article 33(2).

4. The subject matter of said Claim 1 also involves an inventive step under the terms of PCT Article 33(3) for the following reason:

The closest prior art is document D1.

Said document D1 relates to the examination of the biochemical mechanisms involved in the development of atherosclerosis following an infection with *Chlamydia pneumonia* (the introduction). For the purposes of such an examination, the authors have used an *in vitro* model based on human umbilical vein cells. Said cells were infected with *Chlamydia pneumonia* and the expression of the tissue factor TF was measured. Said tissue factor TF is known to cause thrombin formation, platelet activation and fibrin formation. TF is considered to be the main initiator of blood coagulation (page 173, left-hand column, last paragraph). The authors have thus demonstrated that an infection with *Chlamydia pneumonia* causes a four-fold increase in said tissue factor TF (the introduction).

The subject matter of Claim 1 differs from D1 in that it relates to determining *in vitro* whether an individual has been infected with a bacterium of the *Chlamydia* genus, in particular *Chlamydia pneumonia*.

The technical effect of this difference leads to *in*

THIS PAGE BLANK (USPTO)

vitro determination of susceptibility to a venous thromboembolic disease.

The technical problem to be solved therefore appears to be that of developing a method for determining *in vitro* the susceptibility of an individual to a venous thromboembolic disease.

D1 confirms the connection between an infection with *Chlamydia pneumonia* and the development of atherosclerosis. D1 demonstrates that the enhanced expression of the tissue factor TF, which is the main initiator of blood coagulation, is the cause of said development.

The mechanisms involved in venous thrombosis appear to be different. Said venous thrombosis can be due to genetic susceptibility, to antithrombin, protein C or protein S deficiency as well as to various conventional risk factors (description, page 1, lines 17-20).

No proof of a venous endothelium being infected with *Chlamydia pneumonia* has been revealed (page 2, lines 3-10).

For the first time, the authors have demonstrated that there is a close connection between an infection with a bacterium of the *Chlamydia* genus and a venous thromboembolic disease.

Given that an infection of the venous endothelium with *Chlamydia pneumonia* had never before been revealed, a person skilled in the art would not have been prompted to seek a connection between such an

THIS PAGE BLANK (USPTO)

infection and a venous thromboembolic disease.

Since the prior art documents do not disclose or suggest such a connection, the subject matter of Claim 1 involves an inventive step under the terms of PCT Article 33(3).

The same argument applies to dependent Claim 2.

Similarly, the subject matter of Claim 3, which relates to a second medical use of an active agent against an infection of this kind in order to prevent and/or treat a venous thromboembolic disease, involves an inventive step.

The same is true of dependent Claims 4 to 6.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORTInternational application No.
PCT/FR 00/00725**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to the requirements of PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not indicate the relevant prior art disclosed in document D1, nor does it cite said document.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The subject matter of Claim 1 does not fulfil the requirements of PCT Article 6 for the following reasons:

- the use of the indefinite article "a" in the expression "a thromboembolic disease" suggests that various diseases are concerned whereas the use of the definite article "the" in the expression "the thromboembolic disease" in the description (page 1, line 11) suggests the opposite. This lack of consistency also leads to a lack of clarity of Claim 1.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION

International Bureau

INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International patent classification ⁷ :	A1	(11) International publication number: WO 00/57186 (43) International publication date: 28 September 2000 (28.09.00)
(21) International application number:	PCT/FR00/00725	
(22) International filing date:	22 March 2000 (22.03.00)	
(30) Data relating to the priority:	99/03,613 23 March 1999 (23.03.99)	FR
(71) Applicant (for all designated States except US):	INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM) [FR/FR]; 101, rue de Tolbiac, F-75013 Paris (FR). ASSISTANCE PUBLIQUE - HOPITAUX DE PARIS [FR/FR]; 3, avenue Victoria, F-75001 Paris (FR).	
(72) Inventors; and		
(75) Inventors/Applicants (US only):	EMMERICH, Joseph [FR/FR]; 112, rue Rambuteau, F-75001 Paris (FR). FIESSINGER, Jean-Noël [FR/FR]; 16, boulevard Raspail, F-75007 Paris (FR). AIACH, Martine [FR/FR]; 70, rue Brancas, F-92310 Sèvres (FR).	
(74) Representative:	JACOBSON, Claude; Cabinet Lavoix, 2, place d'Estienne d'Orves, F-75441 Paris Cedex 09 (FR).	

As printed

(54) Title: METHOD FOR DETECTING PREDISPOSITION TO A VENOUS THROMBOEMBOLIC DISEASE

(54) Titre: METHODE DE DETERMINATION D'UNE PREDISPOSITION A UNE MALADIE THROMBOEMBOLIQUE VEINEUSE

(57) Abstract

The invention concerns a method for detecting *in vitro* predisposition to a venous thromboembolic disease in a subject, which consists in determining whether the subject has been infected by a genus *Chlamydia* bacterium, in particular *Chlamydia pneumoniae*. The invention also concerns the use of active agents on genus *Chlamydia* bacteria for preventing and/or treating a venous thromboembolic disease.

(57) Abrégé

La présente invention concerne une méthode de détermination *in vitro* d'une prédisposition à une maladie thromboembolique veineuse chez un sujet, dans laquelle on détermine si le sujet a été infecté par une bactérie du genre *Chlamydia*, notamment *Chlamydia pneumoniae*. La présente invention concerne également l'utilisation d'agents actifs sur les bactéries du genre *Chlamydia* pour la prévention et/ou le traitement d'une maladie thromboembolique veineuse.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

1
Méthode de détermination d'une prédisposition à une maladie thromboembolique veineuse

La présente invention est basée sur la mise en évidence d'un lien étroit entre une infection par une bactérie du genre *Chlamydia* et la maladie thromboembolique veineuse.

L'invention concerne plus particulièrement une méthode de détermination *in vitro* d'une prédisposition à une maladie thromboembolique veineuse chez un sujet dans laquelle on détermine si le sujet a été infecté par une bactérie du genre *Chlamydia*, et sur l'utilisation d'agents actifs sur les bactéries du genre *Chlamydia* pour la prévention et/ou le traitement d'une maladie thromboembolique veineuse.

10

La maladie thromboembolique veineuse est un désordre multifactoriel avec des facteurs de risque à la fois génétiques et acquis (Rosendaal et al, 1997). Les facteurs de risque classiques pour la thrombose veineuse sont associés à une altération des vaisseaux ou une stase (ralentissement, voire arrêt de la circulation sanguine veineuse), dus notamment à un traumatisme, une opération chirurgicale ou une immobilisation. Globalement une prédisposition génétique à une thrombose veineuse n'explique que 40% des cas. Des déficits en antithrombine, en protéine C et en protéine S expliquent notamment de 5 à 10% des cas de maladies thromboemboliques veineuses. Après avoir pris en compte des facteurs de risques acquis conventionnels et des prédispositions génétiques, au moins un tiers des épisodes thrombotiques veineux restent inexplicables.

Actuellement le traitement le plus couramment utilisé dans des cas de thromboses veineuses est un traitement à base d'anticoagulants. Cependant un tel traitement ne peut être envisagé que pour une durée limitée, en raison d'effets secondaires dangereux. Une administration prolongée d'anticoagulants augmente en effet les risques d'hémorragies, en particulier d'hémorragies cérébrales. Un traitement alternatif est par conséquent recherché.

Le lien entre une infection par *Chlamydia pneumoniae* et l'athérosclérose est bien documenté. L'utilisation d'antibiotiques dans le traitement des maladies cardiovasculaires telles que les infarctus du myocarde ou les maladies des artères coronaires a également été envisagée (WO

90/00061, WO 98/17280; WO 98/06408, Gibbs et al, 1998). Les maladies cardiovasculaires visées sont cependant des maladies du système artériel.

En revanche jusqu'à présent aucune donnée ne suggérait la possibilité d'un lien entre *Chlamydia pneumoniae* et les pathologies du système veineux. Alors qu'un article d'Ong et al, publié en 1996 rapportait la détection par PCR (« polymerase chain reaction ») de *Chlamydia pneumoniae* dans une veine iliaque sur deux sujets contrôles *a priori* exempts de pathologies vasculaires, un article ultérieur (Bartels et al, 1998) rapportait au contraire l'absence de cette bactérië dans les veines saphènes natives de patients ayant subi un pontage coronarien.

Les auteurs de la présente invention ont découvert de manière surprenante un lien étroit entre une infection par une bactérie du genre Chlamydia et une maladie thromboembolique veineuse.

Plus particulièrement les auteurs de l'invention ont montré que des taux élevés en anticorps anti- *Chlamydia pneumoniae* représentent un facteur de risque pour une maladie thromboembolique veineuse.

Sans se lier en aucune manière à un mécanisme d'action précis, les auteurs émettent l'hypothèse qu'une infection chronique des parois des veines par *Chlamydia pneumoniae* pourrait rendre les cellules endothéliales veineuses thrombogènes.

La présente invention a donc pour objet une méthode de détermination *in vitro* d'une prédisposition à une maladie thromboembolique veineuse chez un sujet dans laquelle on détermine si le sujet a été infecté par une bactérie du genre Chlamydia, plus particulièrement *Chlamydia pneumoniae*.

On détermine si le sujet a été infecté par une bactérie du genre Chlamydia par analyse d'un échantillon biologique. Il peut s'agir notamment d'un échantillon de sang, d'urine, de liquide pleural, d'un échantillon obtenu par bronchoscopie ou par lavement bronchoalvéolaire, ou d'un échantillon obtenu par une biopsie, par exemple de l'endothélium vasculaire. On peut alors déterminer si cet échantillon contient des anticorps anti-*Chlamydia* ou s'il

contient des bactéries du genre Chlamydia ou des fragments de celles-ci. On peut, par exemple, rechercher la présence d'un composant chlamydial, tel que des liposaccharides ou des protéines membranaires, ou des substances produites par *Chlamydia*, tels que des exopolysaccharides, ou encore des substances produites par les cellules hôtes par induction de *Chlamydia*.

De manière préférentielle, on détermine si le sujet a été infecté par une bactérie du genre *Chlamydia* en dosant le taux d'anticorps anti-*Chlamydia* dans un échantillon biologique d'un sujet à tester, par exemple un échantillon de sang.

Les titres d'anticorps anti-*Chlamydia* obtenus chez les sujets à tester sont ensuite comparés aux titres d'anticorps obtenus chez des sujets contrôles. Le titre est défini par la dilution maximale de l'échantillon biologique pour laquelle les anticorps sont encore détectés et est exprimé par l'inverse du facteur de dilution. Un titre d'anticorps supérieur à 256 peut être considéré comme représentant un facteur de risque non négligeable.

La présente invention a donc plus particulièrement pour objet une méthode de détermination d'une prédisposition à une maladie thromboembolique veineuse chez un sujet comprenant les étapes consistant à :

- i) doser le taux d'anticorps anti-chlamydia dans un échantillon biologique d'un sujet à tester ;
- ii) comparer ce taux d'anticorps avec le taux d'anticorps anti-chlamydia obtenu chez des sujets contrôles ;
- iii) identifier le sujet testé comme un sujet présentant une prédisposition à une maladie thromboembolique veineuse si le taux d'anticorps obtenu à l'étape i) est supérieur au taux d'anticorps anti-chlamydia obtenu chez des sujets contrôles.

La présente invention porte également sur l'utilisation d'au moins un agent actif contre une infection par une bactérie du genre *Chlamydia*, en particulier *Chlamydia pneumoniae*, ou d'au moins un agent efficace contre les effets inflammatoires d'une infection par *Chlamydia*, pour la prévention et/ou le traitement d'une maladie thromboembolique veineuse.

De manière préférentielle, des compositions pharmaceutiques contenant des agents antibiotiques peuvent être utilisées.

L'invention a donc plus particulièrement pour objet l'utilisation d'une substance antibiotique active sur les bactéries du genre Chlamydia, notamment *Chlamydia pneumoniae*, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention et/ou au traitement d'une maladie thromboembolique veineuse.

Parmi les substances ou agents antibiotiques actifs sur le genre bactérien Chlamydia, on peut notamment citer les macrolides (par exemple, l'érythromycine ou l'azithromycine), les tétracyclines, les fluoroquinolones et la rifampicine.

Selon un autre mode de réalisation de la présente invention, ledit agent actif contre une infection par *Chlamydia* peut être une protéine immunogène ou un fragment immunogène d'une protéine de *Chlamydia*, notamment de *Chlamydia pneumoniae*. Ces protéines ou ces fragments de protéines sont caractérisés par leur capacité à induire une immunité à rémédiation cellulaire ou humorale envers une infection par *Chlamydia*, notamment *Chlamydia pneumoniae*, par administration de la protéine en combinaison avec un adjuvant approprié. De manière préférentielle, on peut utiliser la protéine majeure de la membrane externe ou des protéines de la surface cellulaire de la bactérie qui peuvent être fragmentées de manière aléatoire. Les fragments aléatoires d'une protéine de *Chlamydia* peuvent être testés pour leur immunogénicité par l'homme du métier. Des vaccins contenant des antigènes cellulaires de *Chlamydia* des fragments de celui-ci peuvent être obtenus de manière conventionnelle, par exemple par lyse cellulaire ou par des techniques de purification ou de séparation standard.

Une composition utile selon l'invention peut également comprendre une bactérie *Chlamydia* tuée ou inactivée par tout moyen conventionnel comme la chaleur ou une irradiation.

Une composition utile selon la présente invention peut également contenir une ou des séquences d'acide nucléique codant pour une protéine de surface de *Chlamydia* ou un fragment de celle-ci. L'acide nucléique utilisé peut être administré à l'aide d'un vecteur vaccinal ou sous forme nue, c'est-à-dire

exempt de tout agent facilitant la pénétration de cet acide nucléique dans la cellule.

5 L'invention a également pour objet une méthode pour la prévention et/ou le traitement de la maladie thromboembolique veineuse, dans laquelle on administre à un patient nécessitant un tel traitement une quantité prophylactiquement ou thérapeutiquement efficace d'un agent actif sur les bactéries du genre *Chlamydia*, notamment d'un agent antibiotique, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

10 La prévention des récidives suite à une première thrombose veineuse est plus particulièrement visée.

15 Les modes d'administration, les posologies et les formes galéniques des compositions pharmaceutiques utiles selon l'invention peuvent être déterminés de manière usuelle par l'homme du métier, notamment selon les critères généralement pris en compte pour l'établissement d'un traitement thérapeutique adapté à un patient, comme par exemple l'âge ou le poids corporel du patient, la gravité de son état général, la tolérance au traitement, et les effets secondaires constatés, etc.

20 Une composition pharmaceutique utile selon l'invention peut être notamment administrée par voie orale, parentérale, intraveineuse, intramusculaire, sous-cutanée, percutanée ou intra-nasale.

25 Lorsque la composition pharmaceutique utilisée est une composition antibiotique, la dose efficace se situe dans les gammes utilisées de manière usuelle, pour tout antibiotique contre les bactéries *Chlamydia*. On peut notamment administrer de manière avantageuse ladite composition en courts cycles (4 à 10 jours environ) à répéter par exemple tous les six mois après le premier épisode thrombotique veineux.

30

Le lien entre une infection par une bactérie *Chlamydia pneumoniae* et une maladie thromboembolique veineuse est illustré dans les

résultats présentés ci-après, qui ne limitent en aucune manière la portée de la présente invention.

Les auteurs de la présente invention ont ainsi étudié 176 patients
5 avec une maladie thromboembolique veineuse diagnostiquée, et 197 sujets
contrôle en bonne santé, d'âge et de sexe variés. Les facteurs de risques
acquis pour une maladie thromboembolique veineuse et les facteurs
génétiques de prédisposition fréquents (mutations Arg 506 Gln dans le facteur
V et G 20210 A dans le facteur II) ont été évalués chez tous les sujets. Le taux
10 d'anticorps IgG anti-C. *pneumoniae* a été déterminé par
microimmunofluorescence. Tous les échantillons plasmatiques positifs (titre \geq
128) ont été précisément quantifiés et testés pour la présence d'anticorps IgM
spécifiques.

15

MATERIELS ET METHODES :

Sujets :

Parmi 205 patients (92 hommes et 113 femmes) avec des
maladies thromboemboliques veineuses, on a sélectionné les patients de
moins de 61 ans qui avaient eu au moins un épisode de thrombose veineuse
profonde diagnostiquée objectivement (ultrasonographie par compression ou
veinographie) et/ou une embolie pulmonaire (scintigraphie pulmonaire de
perfusion et de ventilation, angiographie pulmonaire conventionnelle et scanner
spirale). On a réalisé auprès de tous les patients une étude clinique complète
soulignant leurs antécédents personnels et familiaux en matière de maladie
thromboembolique, et les facteurs de risques acquis (acte chirurgical ou
traumatisme dans les trois derniers mois, immobilisation supérieure à 72
heures, grossesse, traitement avec des oestrogènes, veine variqueuse et
cancer). On a recueilli le sang de 176 patients (86 %) ; dans 87 cas, les
échantillons ont été obtenus moins de trois mois après le déclenchement d'une
maladie thromboembolique veineuse aiguë (médiane 1 jour ; écart IQR 0-16),
alors que les 89 échantillons restants ont été obtenus plus de trois mois après
le déclenchement (médiane 12 mois, écart IQR 6,5-36). Les 197 sujets

contrôles sains d'âge et de sexe variés ont été retenus comme n'ayant aucun antécédent de maladie thromboembolique veineuse, d'infarctus du myocarde, de maladie vasculaire périphérique.

5

Dosage :

Le sang veineux a été recueilli dans du citrate de trisodium 0,129 M (1:10) et deux étapes de centrifugation à 2 000 g pendant 15 minutes ont été réalisées pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Le plasma a été congelé et stocké sous forme de fraction aliquote à -40°C jusqu'à utilisation.
10 L'ADN a été extrait à partir des leucocytes par des méthodes standard et stockées à 4°C.

Pour les tests sérologiques, chaque cas et chaque échantillon contrôle ont été marqués avec un nombre aléatoire et analysés en aveugle. Le statut sérologique en *C. pneumoniae* a été déterminé par un dosage par microimmunofluorescence (MIF) à l'aide du kit "SeroFIA IgG Chlamydia" (Savyon Diagnostics LTD, Ashdod, Israël). En bref, des corps élémentaires de *C. pneumoniae* purifié (souche IOL 207) ont été utilisés pour détecter les anticorps IgG. Tous les échantillons de plasma étaient criblés initialement à une dilution de 1:128 et ont été considérés positifs au-dessus de cette dilution.
15 Les plasmas positifs ont ensuite été testés à des dilutions de 1:256, 1:512 et 1:1024. Les titres d'IgG spécifiques ont été rapportés comme l'inverse de la dernière dilution positive. Des échantillons positifs pour les IgG anti-*C. pneumoniae* ont ensuite été testés pour la présence d'IgM anti-*C. pneumoniae* au moyen du dosage MIF avec le kit "SeroFIA IgM Chlamydia" (Savyon
20 Diagnostics LTD), à une dilution de 1:20 comme recommandé par le fabricant.
25

On a par ailleurs étudié si l'ADN des sujets contrôles et des patients présentaient la mutation Arg 506 Gln dans le facteur V, après amplification par PCR de l'exon 10 du facteur V et digestion par des enzymes de restriction. La transition G 20210 A du gène de la prothrombine a été identifiée après amplification à l'aide de deux amores :
30

(5'-TTACAAGCCTGATGAAGGG-3'

et 5'-CCATGAATAGCACTGGGAGCATTGAAGC-3'). La seconde amorce a été construite de telle sorte qu'une substitution nucléotidique (C vers A) à la

position 20210 créent un nouveau site de restriction pour *Hind III* lorsque la transition de G vers A à la position 20210 est présente.

Analyse statistique :

Les données sont analysées en utilisant le logiciel de statistique SAS (Institute Inc., Cary, N.C.). Les caractéristiques cliniques de la population entière des patients et du sous-groupe des cas avec des échantillons de sang prélevés moins de trois mois après l'épisode de thrombose ont été comparées à celles des sujets contrôles en utilisant un test Chi² avec un degré de liberté. L'âge a été testé en analyse de variance (ANOVA).

Les odds ratios associés à une séropositivité pour *C. pneumoniae* ont été calculés en comparant les sujets ayant des titres de 256 ou plus ayant des sujets avec des titres inférieurs à 256. L'hétérogénéité des odds ratios en termes d'âge et de sexe a été testée en entrant les variables d'interaction (un degré de liberté) dans les régressions logistiques. Les odds ratios pour une maladie thromboembolique veineuse et l'intervalle de confiance (IC) de 95 % associé à chaque titre d'IgG anti-*C. pneumoniae*, codés comme variables binaires, ont été ensuite calculés avec référence à la séronégativité en utilisant une procédure de régression logistique (SAS-PROC LOGIST). La même analyse a été appliquée au sous-groupe de cas avec des échantillons de sang prélevés moins de trois mois après le déclenchement de la maladie thromboembolique veineuse. Dans la population testée entière, les taux de séropositivité pour *C. pneumoniae* ont été comparés en terme de première thrombose contre thrombose récurrente, en terme de présence de facteur de risque associé contre absence de facteur de risque associé, et première thrombose à un âge inférieur à 40 ans (âge médian de la population) contre une première thrombose à un âge supérieur à 40 ans, par un test Chi² avec un degré de liberté. Les différences avec des valeurs p inférieures à 0,05 ont été considérées comme significatives.

RESULTATS :

Les cas et contrôles ne diffèrent pas en termes de ratios d'âge ou de sexe (cf tableau 1). La maladie thromboembolique veineuse a été considérée comme idiopathique chez des patients n'ayant pas de contraception orale, de chirurgie récente (inférieure à un mois) ou de traumatisme, de grossesse ou d'accouchement, d'immobilisation ou de cancer. La moitié des patients a été recrutée dans les trois mois après l'épisode aigu de thrombose veineuse. Les caractéristiques de ce sous-groupe n'étaient pas statistiquement différentes de celles de la population entière de cas. La prévalence des mutations Arg 506 Gln du facteur V et G 20210 A du facteur II était dans le domaine attendu chez des Caucasiens (21,9 % chez les patients et 5,1 % chez les contrôles, $p<0,0001$; et 10,2 % et 4,1 %, $p=0,02$, respectivement).

Les titres IgG spécifiques de *C. pneumoniae* tendent à être plus élevés chez les patients que chez les contrôles (cf tableau 2). De manière significative, on observe que plus de patients que de contrôles ont des titres IgG de *C. pneumoniae* de 256 ou plus (54 % et 15,9 % respectivement, $p<0,0001$). L'odds ratio pour les maladies thromboemboliques veineuses associées avec des titres IgG de 256 ou plus était de 6,2 (Intervalle de confiance (IC) 95 %, 3,8-10,1). Dans le sous-groupe de patients avec des échantillons de sang prélevés moins de trois mois après l'épisode thrombotique, le ratio brut (odds ratio) parmi les sujets avec des titres IgG \geq 256 était de 5,4 (IC 95 %, 3,1-9,6). De plus, l'odds ratio pour une maladie thromboembolique veineuse augmente avec le titre d'IgG : pour des titres de 256, 512 et 1024, les odds ratio bruts étaient de 2,1 (IC 95 %, 1,0-4,2), 4,3 (2,1-8,9) et 32,4 (4,2-248,3), respectivement (cf tableau 3). Une plus large proportion de contrôles séropositifs avait un titre IgG bas de 128 par rapport aux témoins (54,9 % et 21 %, respectivement). Des odds ratios similaires ont été obtenus dans le sous-groupe de cas testés dans les trois mois après l'épisode thrombotique.

Les odds ratios n'étaient pas différents significativement selon l'âge ou le sexe. Après exclusion des sujets portant les mutations Arg 506 Gln du facteur V et G 20210 A du facteur II, l'odds ratio pour la maladie

thromboembolique veineuse associée à un titre supérieur à 256 était de 7,7 (IC 95 %, 4,5-13,2). Les caractéristiques de la maladie thromboembolique veineuse (âge au moment du premier épisode ; nature récurrente ou spontanée) ne différaient pas en fonction du statut sérologique de *C. pneumoniae*.

5 Pour discriminer une infection aiguë d'une infection chronique, les auteurs de l'invention ont en outre évalué les anticorps IgM anti-*C. pneumoniae* circulants dans les 95 cas et 31 contrôles qui avaient des titres d'IgG supérieurs à 256. Seul un sujet du groupe des patients atteints de maladies thromboemboliques veineuse était positif pour les IgM.

10

CONCLUSION :

Les résultats ci-dessus montrent clairement un lien entre le statut sérologique de *C. pneumoniae* et la thrombose veineuse. L'odds ratio pour une maladie thromboembolique veineuse associée avec des titres circulants d'anticorps IgG anti-*C. pneumoniae* de 256 ou plus était de 6,2 (IC 95 % ; 3,8-10,1) et restait élevé après exclusion des patients avec des mutations Arg 506 Gln dans le facteur V et G 20210 A dans le facteur II (odds ratio 7,7 ; IC 95 % ; 4,5-13,2). Le fait que l'odds ratio pour une maladie thromboembolique veineuse augmente avec le titre d'anticorps IgG renforce cette association (cf tableau 3).

15

20

	Cas n=176	Contrôles n=197	Test
% femmes	56.2	55.3	p=0.87
âge moyen (DS)	42.8 (10.7)	42.9 (10.6)	p=0.92
% contraception orale chez les femmes	34.0	22.0	p=0.053
% mutation FV-Arg 506Gln	21.9	5.1	p<0.0001
% mutation FII-G20210A	10.2	4.1	p=0.02
% MTE spontanée	37.6	-	-
% MTE récurrente	26.7	-	-
% embolie pulmonaire	37.1	-	-
âge moyen au premier MTE (DS)	38.4 (12.0)	-	-

MTE : maladie thromboembolique veineuse

DS : déviation standard

Tableau 1: Caractéristiques des cas avec une maladie thromboembolique veineuse (MTE) et des contrôles.

<i>C. pneumoniae</i> titres IgG	Contrôles n (%)	Tous les cas		Cas < 3 mois*	
		n (%)	OR (IC 95%)	n (%)	OR (IC 95%)
Négatifs	57 (29.2)	44 (25.0)		26 (29.9)	
128	107 (54.9)	37 (21.0)		17 (19.5)	
256	17 (8.7)	27 (15.4)		14 (16.1)	
512	13 (6.7)	43 (24.4)	6.2 (3.8-10.1)** p<0.0001	20 (23.0)	5.4 (3.1-9.6)** p<0.0001
1024	1 (0.5)	25 (14.2)		10 (11.5)	

* Cas avec des échantillons sang prélevés dans les trois mois après l'épisode MTE. ** : <256 vs ≥ 256.

IC : intervalle de confiance

OR : odds ratio

Tableau 2 : Détection et titrage des anticorps IgG anti-*Chlamydia pneumoniae* chez les cas et les contrôles, et odds ratios (IC 95%) pour une maladie thromboembolique veineuse (MTE) associée à des titres IgG ≥ 256.

<i>C. pneumoniae</i> titres IgG	Tous les cas			Cas < 3 mois*		
	OR	(IC 95%)	P	OR	(IC 95%)	P
Négatifs	1	-	-	1	-	-
128	0.4	(0.3-0.8)	0.004	0.3	(0.2-0.7)	0.0028
256	2.1	(1.0-4.2)	0.05	1.8	(0.8-4.2)	0.17
512	4.3	(2.1-8.9)	<0.0001	3.4	(1.5-7.8)	0.0045
1024	32.4	(4.2-248.3)	0.0008	21.9	(2.7-180.3)	0.0041

* Cas avec des échantillons de sang prélevés dans les trois mois après l'épisode MTE

IC : intervalle de confiance

OR : odds ratio

Tableau 3 : Odds ratios (IC 95%) pour une maladie thromboembolique veineuse (MTE) en fonction des titres IgG anti-*Chlamydia pneumoniae* par référence à l'absence d'anticorps détectables.

REFERENCES

- 5 - Bartels C. et al. *Detection of Chlamydia pneumoniae but not cytomegalovirus in occluded saphenous vein coronary artery bypass grafts.* Circulation, 1999, 99:879-882.
- 10 - Gibbs RGJ, Carey N, Davies AH. *Chlamydia pneumoniae and vascular disease.* Br J Surg 1998;85:1191-7.
- 15 - Ong G, Thomas BJ, Mansfield AO, Davidson BR, Taylor-Robinson D. *Detection and widespread distribution of Chlamydia pneumoniae in the vascular system and its possible implications.* J Clin Pathol 1996;49:102-6.
- 20 - Rosendaal FR. *Thrombosis in the young : epidemiology and risk factors. A focus on venous thrombosis.* Thromb Haemost 1997;78:1-6.

REVENDICATIONS

1. Méthode de détermination *in vitro* d'une prédisposition à une maladie thromboembolique veineuse chez un sujet, dans laquelle on détermine si le sujet a été infecté par une bactérie du genre Chlamydia, notamment *Chlamydia pneumoniae*.
2. Méthode selon la revendication 1, dans laquelle on détermine si le sujet a été infecté par une bactérie du genre Chlamydia, notamment *Chlamydia pneumoniae*, par dosage du taux d'anticorps anti-Chlamydia dans un échantillon biologique dudit sujet.
3. Utilisation d'au moins un agent actif contre une infection par une bactérie du genre Chlamydia, en particulier *Chlamydia pneumoniae*, ou d'au moins un agent efficace contre les effets inflammatoires d'une infection par Chlamydia, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention et/ou au traitement d'une maladie thromboembolique veineuse.
4. Utilisation selon la revendication 3, dans laquelle ledit agent actif contre une infection par une bactérie du genre Chlamydia, en particulier *Chlamydia pneumoniae*, est une substance antibiotique.
5. Utilisation selon la revendication 4, dans laquelle ladite substance antibiotique active sur les bactéries du genre Chlamydia, en particulier *Chlamydia pneumoniae*, est choisie parmi le groupe constitué par les macrolides, les tétracyclines, les fluoroquinolones et la rifampicine.
6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 3 à 5, dans laquelle ledit médicament est destiné à la prévention des récidives suite à une première thrombose veineuse.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

onal Application No

PCT/FR 00/00725

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 G01N33/569

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

BIOSIS, MEDLINE, EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; FRYER, RICHARD H. ET AL: "Chlamydia species infect human vascular endothelial cells and induced procoagulant activity." retrieved from STN XP002124198 abstract & JOURNAL OF INVESTIGATIVE MEDICINE, (1997) VOL. 45, NO. 4, PP. 168-174.,</p> <p>---</p> <p style="text-align: center;">-/-</p>	1

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 June 2000

Date of mailing of the international search report

10/07/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Muñoz, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No
PCT/FR 00/00725

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE MEDLINE 'Online! US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; VISSEREN F L ET AL: "Atherosclerosis as an infectious disease!. Atherosclerose als infectieziekte." retrieved from STN Database accession no. 1999237434 XP002124199 abstract & NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR GENEESKUNDE, (1999 FEB 6) 143 (6) 291-5. REF: 36,</p>	1,3
A	<p>DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; MATTILA, K. J. (1) ET AL: "Role of infection as a risk factor for atherosclerosis, myocardial infarction, and stroke." retrieved from STN XP002124200 abstract & CLINICAL INFECTIOUS DISEASES, (MARCH, 1998) VOL. 26, NO. 3, PP. 719-734.,</p>	1
A	<p>US 5 424 187 A (SHOR ALLAN ET AL) 13 June 1995 (1995-06-13) the whole document</p>	1
A	<p>WO 98 17280 A (ST GEORGE S ENTERPRISES LTD ;GUPTA SANDEEP (GB)) 30 April 1998 (1998-04-30) cited in the application abstract</p>	1-6
A	<p>WO 98 06408 A (WISTAR INST) 19 February 1998 (1998-02-19) cited in the application abstract</p>	1-6
A	<p>WO 90 00061 A (LABSYSTEMS OY) 11 January 1990 (1990-01-11) cited in the application abstract</p>	1-6